

Klaudia Stangel-Wójcikiewicz, Danuta Jarocho, Marcin Majka

Rozdział 5

Medycyna regeneracyjna w leczeniu nietrzymania moczu

5.1. Pozyskiwanie autologicznych komórek mioblastycznych

Przez wiele lat sądzono, że tkanka mięśniowa nie zawiera komórek macierzystych, które umożliwiałyby jej regenerację i wzrost w życiu dorosłym. W 1961 roku komórki progenitorowe mięśni poprzecznie prążkowanych wykryto w mięśniach żab na podstawie morfologii i lokalizacji w stosunku do włókien mięśniowych [1]. U człowieka komórki te zostały zidentyfikowane w 1976 roku przez E. Schultza i wsp. [2]. Komórki macierzyste mięśni prążkowanych inaczej nazywane komórkami satelitarnymi to małe, jednojądrzaste komórki znajdujące się pomiędzy błoną podstawną a sarkolemmą [1, 3]. Dużą rolę w ich poznaniu odegrały doświadczenia prowadzone na zwierzętach, które były obarczone mutacjami wywołującymi objawy podobne do dystrofii mięśniowych u ludzi, a także myszy „knock-out” nieposiadających genów odpowiedzialnych za rozwój i dojrzewanie komórek mięśniowych [1, 4, 5]. Komórki satelitarne mięśni biorą udział w ich regeneracji i odnowie po intensywnym wysiłku fizycznym, a także po uszkodzeniu tkanki mięśniowej [1, 3, 6].

Komórki satelitarne można izolować na kilka sposobów. Najczęstszym są wielokrotne pasażę tych komórek, w trakcie których pozbywamy się fibroblastów i uzyskujemy populację komórkową wzbogaconą o komórki satelitarne. Inną metodą może być wyko-

rzystanie do izolacji markerów występujących na powierzchni komórek satelitarnych. Obecnie znanych jest kilka takich markerów powierzchniowych. Komórki satelitarne mięśni posiadają na swojej powierzchni białko MET, które jest receptorem dla czynnika wzrostowego hepatocytów (*hepatocyte growth factor* – HGF) [1, 3]. Jego obecność wykazano na niepobudzonych komórkach satelitarnych. Kolejnym markerem powierzchniowym komórek satelitarnych jest białko – M kadcheryna [1, 3]. Na powierzchni komórek satelitarnych znajduje się także jeden z receptorów chemokinowych CXCR4. Jego ligandem jest czynnik pochodzenia podścieliskowego 1 (*stromal derived factor 1* – SDF-1) [7]. Receptor ten występuje także na komórkach macierzystych i jest odpowiedzialny za ich migrację [8]. Obecność tych markerów na powierzchni komórek satelitarnych może być wykorzystana do izolacji populacji komórek mięśniowych wzbogaconych o komórki satelitarne. Komórki te umieszczone w odpowiednich pożywkach hodowlanych można namnażać w warunkach *in vitro*.

5.2. Badania eksperymentalne i kliniczne

Opracowanie metod hodowli oraz namnażania komórek mięśniowych w warunkach *in vitro* umożliwiło badanie przydatności wykorzystania terapii komórkowej, opartej na autologicznych komórkach mięśniowych, w leczeniu różnych chorób, w tym NTM.

W latach 2000–2011 opublikowano wyniki wielu badań przedklinicznych wykorzystania terapii komórkowej w leczeniu NTM. W badaniach wykorzystywano myszy, szczury oraz świny, którym podawano MDC (*muscle derived cells* – komórki pochodzenia mięśniowego), MDSC (*muscle-derived stem cells* – dojrzałe macierzyste komórki mięśniowe), MPC (*muscle progenitor cells* – progenitorowe komórki mięśniowe), MPDC (*muscle-derived progenitor cells* – komórki progenitorowe pochodzenia mięśniowego), BMSC

(*bone-marrow mesenchymal cells* – komórki mezenchymalne szpiku kostnego) oraz UCBSC (*umbilical cord blood stem cells* – komórki macierzyste krwi pępowinowej). Wykazały one, że nietrzymanie moczu powodowane nieodwracalnym uszkodzeniem lub odnerwieniem cewki moczowej można leczyć, podając komórki izolowane z mięśni szkieletowych. Histochemiczne oraz immunohistochemiczne analizy dowiodły, że komórki przeżywają podanie oraz że rozpoczyna to proces naprawy, który odzwierciedla fizjologiczny proces regeneracji mięśni szkieletowych i zwieracza cewki moczowej. Co więcej, powstawały nowe unerwione włókna mięśniowe. Powyższe obserwacje dały podstawy do rozwijających się w ślad za nimi badań klinicznych.

Dotychczas opublikowano 12 prac przedstawiających wyniki badań eksperymentalnego leczenia NTM u ludzi z wykorzystaniem różnych typów komórek namnażanych w warunkach *in vitro*.

Poniżej zaprezentowano przegląd opublikowanych wyników badań klinicznych oraz prowadzonych obecnie na świecie badań klinicznych z dostępnych przeglądarek i platform badań klinicznych, tj.:

- U.S. National Institutes of Health – <http://www.clinicaltrials.gov>;
- Current Controlled Trials – <http://www.controlled-trials.com>;
- Australian, New Zealand Clinical Trials Registry – <http://www.actr.org.au>;
- ISRCTN – <http://isrctn.org>;
- Nederland's Trial Register – <http://www.trialregister.nl/trialreg/index.asp>;
- UMIN Clinical Trials Registry – <http://www.umin.ac.jp/ctr>;
- WHO International Clinical Trials Registry Platform – <http://apps.who.int/trialsearch/>.

Pozwoliło to wyłonić te, które skupiają się na określaniu skuteczności podawania komórek macierzystych w WNM.

W roku 2008 ukazała się praca, w której opisano wykorzystanie komórek MDSC w terapii WNM u ośmiu kobiet bez stosowania do-

datkowego leczenia lub innych czynników poprawiających działanie komórek [9]. Zespół pod kierownictwem M.B. Chancellora wykonał do pobrania komórek z mięśnia naramiennego igłę biopsyjną. Po okresie hodowli w warunkach laboratoryjnych podawano pacjentkom w znieczuleniu miejscowym zawiesinę komórek, używając jednego z trzech sposobów: trzy kobiety otrzymały przezcewkową iniekcję przy użyciu igły o średnicy 8 mm na godzinie 3 i 9, dwie pacjentki przy użyciu igły 10 mm w czterech miejscach przezcewkowo (na godzinie 3, 6, 9 i 12), a trzy pozostałe jak poprzednio, ale igłą 25 G. Pacjentki z ostatniej grupy otrzymały dodatkowe iniekcje po 3 miesiącach od pierwszego zabiegu, wykonane również w opisywanych czterech miejscach. Średni czas obserwacji wynosił 17 miesięcy. Wśród pozostałych w kontroli pięciu kobiet jedna całkowicie kontrolowała mikcję, u dwóch kolejnych stwierdzono znaczną poprawę, jednakże wykonano u nich kolejne iniekcje po 4–8 miesiącach od pierwszego zabiegu. Nie opisywano żadnych skutków ubocznych leczenia. Wyniki powyższych badań pozwoliły zaprojektować badanie wielośrodkowe, którego wyniki powinny zostać opublikowane w najbliższym czasie.

Od 2009 roku w USA, Kanadzie oraz w Europie prowadzi się kolejne badania kliniczne mające na celu ocenę skuteczności leczenia WNM z wykorzystaniem autologicznych komórek mięśniowych w zależności od zastosowanej liczby komórek w jednym podaniu. Dwa kolejne badania rozpoczęto w 2010 roku. Dotyczą one zastosowania MDC w leczeniu WNM u kobiet oraz oceny skuteczności leczenia ekstrofii pęcherza moczowego u dzieci po wcześniejszym zabiegu chirurgicznym.

Naukowcy z Uniwersytetu Medycznego w Lublanie (Słowenia) pod kierownictwem Lukanovica przeprowadzili badanie o charakterze pilotażowego badania klinicznego. Do projektu zakwalifikowano 40 kobiet z WNM w wieku 18–75 lat. Celem było ustalenie, czy zastrzyki zawierające autologiczne mioblasty w połączeniu z elektrostymulacją są bezpieczne i skuteczne w leczeniu NTM. Badania

miały wskazać optymalne dawki liczby wstrzykiwanych do mięśnia zwieracza cewki komórek oraz ocenić tolerancję leczenia.

W innym projekcie prowadzonym w USA przez zespół Petersa skupiono się na badaniach mężczyzn w wieku 78–82 lata z WNM i określeniu bezpieczeństwa i skuteczności terapii NTM u mężczyzn techniką podawania autologicznych komórek macierzystych.

W badaniu zespołu Chancellora z wykorzystaniem dawki 200 mln autologicznych mięśniowych komórek macierzystych, prowadzonym w Kanadzie i USA wzięło udział 16 kobiet powyżej 18. roku życia z WNM, u których wcześniejsze zabiegi nie przyniosły poprawy (np. zmiany zachowań, ćwiczenia pęcherza, biofeedback, elektrostymulacja, zastrzyki wypełniające, zawieszenia cewki i/lub farmakoterapia).

W projekcie Gearharta prowadzonym na Uniwersytecie Johns Hopkins w USA terapii poddano 20 dzieci powyżej 2. roku życia. Celem badań była analiza bezpieczeństwa, tolerancji i skuteczności wstrzyknięć komórek uzyskanych z mięśni w leczeniu NTM występującego jako element dużych wad układu moczowego, takich jak wynicowanie pęcherza moczowego czy nieprawidłowe ujście cewki moczowej (Tabele 2 i 3).

Wyniki przytoczonych powyżej badań prowadzonych w ostatnich kilku latach zarówno w Europie, USA, jak i w Japonii przedstawiają pozytywny rezultat terapeutyczny podawania komórek macierzystych do zwieracza cewki moczowej osobom z WNM.

Rozwój badań w zakresie nietrzymania moczu i zdobyte doświadczenia w ramach projektów prowadzonych w różnych ośrodkach na świecie wskazują na konieczność dopracowania metody (w tym opracowanie urządzenia do podawania zawiesiny komórkowej oraz optymalnej liczby podawanych komórek w jednej dawce). Obecnie prowadzony jest duży wieloośrodkowy projekt badawczy *Autologous Muscle-derived Cells Female Stress Urinary Incontinence Clinical Study* zespołu pod kierownictwem Chancellora, mający na celu zbadanie efektywności procedury endoskopowego poda-

Tabela 2. Badania kliniczne zarejestrowane dotyczące nietrzymania moczu

Tytuł badania	Ośrodek	Okres trwania projektu	Płeć/Wiek
Autologous myoblasts and fibroblasts versus collagen for treatment of stress urinary incontinence in women: a randomised trial*	Medical University of Innsbruck, Department of Urology (Austria) Zespół Strassera	09.2002–05.2005	Kobiety
Safety and Efficacy Study of Intra-sphincteric Autologous Myoblast Injection to Treat Stress Urinary Incontinence** NCT01355133	University Medical Center Ljubljana, Dept. of Gynecology Ljubljana, Slovenia Zespół Lukanovica	08.2009–02.2011	Kobiety w wieku 18–75 lat
Autologous Cell Therapy for Female Stress Urinary Incontinence** NCT01008943	Sunnybrook Health Sciences Center, Kanada; Foothills Medical Centre, Kanada; Cook MyoSite Incorporated, Pittsburgh, PA Zespół Carr	07.2010–10.2012	Kobiety powyżej 18. roku życia
Autologous Stem Cells for Urinary Incontinence: Single Patient Compas-sionate Use** NCT01648491	William Beaumont Hospitals Royal Oak, Michigan, United States, 48073 Zespół Petersa	03.2011–11.2012	Mężczyźni w wieku 78–82 lata

Tytuł badania	Ośrodek	Okres trwania projektu	Płeć/Wiek
Periurethral injection of autologous adipose-derived stem cells from liposuction for the treatment of stress urinary incontinence*** UMIN000006116	Department of Urology, Nagoya University Graduate School of Medicine; Japan Zespół Manokazu Gotoh	06.2011 – trwa	Kobiety i mężczyźni powyżej 40. roku życia
Muscle Derived Cell Therapy for Bladder Exstrophy Epispadias Induced Incontinence** NCT01011777	Brady Urological Institute, Johns Hopkins University Baltimore, Maryland, United States Zespół Gearhart	06.2010 – 06.2015	Dzieci powyżej 2. roku życia
Autologous Muscle-Derived Cells Female Stress Urinary Incontinence Clinical Study** NCT01382602	Cook MyoSite Incorporated, Pittsburgh, PA Zespół Carr	12.2011 – 08.2015	Kobiety powyżej 18. roku życia

* <http://www.controlled-trials.com/isrctn/>** www.clinicaltrials.gov/*** <http://www.umin.ac.jp/ctr/>

Tabela 3. Opublikowane wyniki badań klinicznych

Zespół	Komórki	Sposób podania	Płeć/Liczba pacjentów	Wynik terapii**
Bent i wsp. (2001)	Chondrocyty (autologiczne)	Przez- i okołocew- kowo (TUI, PUI); sztyja pę- cherza moczowego	K/32	81% poprawa, 50% wyleczonych
Kajbafzadeh i wsp. (2008)	Mioblasty (autologiczne)	Przezcewkowo (TUI); zwieracz zewnętrzny	M/7; K/1	88% poprawa, 38% wyleczonych (dot. mężczyzn)
Gerullis & Otto* (2010)	Mioblasty (autologiczne)	Przezcewkowo (TUI); w i około zwieracza zewnętrznego	M/132	52,2% poprawa, 38,6% wyleczonych
Lee i wsp. (2010)	Komórki macierzyste z krwi pępowinowej	Przezcewkowo (TUI); zwieracz zewnętrzny	K/36	72% poprawa, 36 ≥ 90% wyleczonych
Herschorn i wsp.* (2010)	MDC	Okołocewkowo (PUI); zwieracz zewnętrzny	K/26	61% poprawa, 43% wyleczonych
Sebe i wsp. (2011)	Mioblasty (autologiczne)	Przezcewkowo (TUI); zwieracz zewnętrzny	K/12	50% poprawa, 25% wyleczonych

Zespół	Komórki	Sposób podania	Płeć/Liczba pacjentów	Wynik terapii**
Surcel i wsp. (2012)	MDSC	Przezcewkowo (TUI)	K/4	niejednoznaczne
Stangel-Wójcikiewicz i wsp. (2013)	MDC	Przezcewkowo (TUI)	K/16	75% poprawa, 50% wyleczonych

* Doniesienia zjazdowe

** Wynik terapii: poprawa – całkowite ustąpienie objawów + częściowa poprawa; wyleczone – całkowite ustąpienie objawów PUI (*periurethral injection*) – okołocewkowe podanie; TUI (*transurethral injection*) – przezcewkowe podanie)

wania komórek macierzystych kobietom (powyżej 18. roku życia) z WNM. Jest to badanie obejmujące 248 pacjentek, randomizowane z podwójnie ślepą próbą oraz kontrolowanym placebo, w które są zaangażowane ośrodki z Kanady, Belgii, Niemiec, Holandii oraz Wielkiej Brytanii [10].

5.3. Technika zabiegu

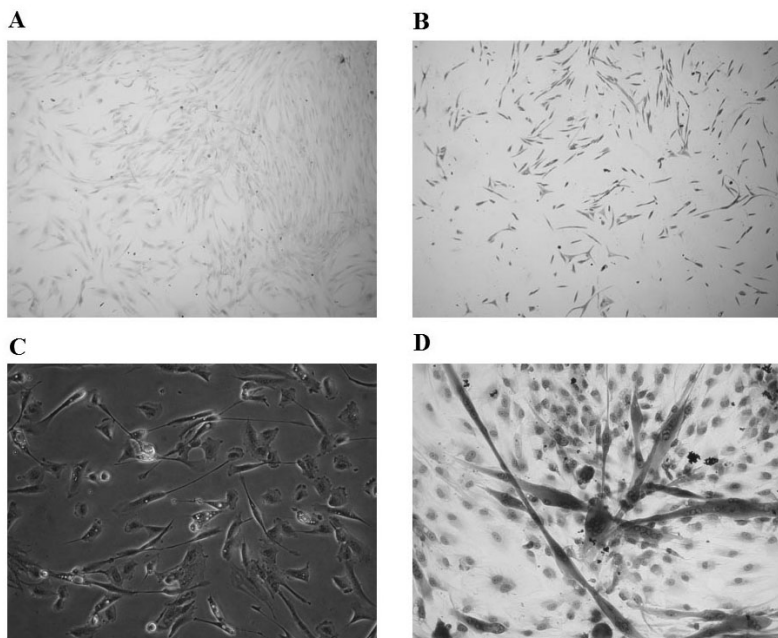
Izolacja i przeszczepianie autologicznych komórek macierzystych mięśni jest terapią innowacyjną leczenia pacjentów z WNM. Wyniki pierwszej amerykańskiej próby klinicznej zostały opublikowane w 2008 roku i wykazały poprawę stanu klinicznego [9]. Kolejne doniesienia oceniały bezpieczeństwo metody oraz efektywność i okazały się zbliżone do konwencjonalnych metod leczenia [11]. W opisanych badaniach przeszczepiano do 100 mln komórek.

5.4. Polskie doświadczenia w wykorzystaniu autologicznych mioblastów w leczeniu nietrzymania moczu

Badanie prowadzone w Klinice Ginekologii i Onkologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum we współpracy z Zakładem Transplantologii UJ CM w latach 2009–2011 objęło 18 pacjentek w wieku od 41 do 68 lat. Zastosowano u nich leczenie z wykorzystaniem iniekcji do zwieracza cewki moczowej dojrzałych macierzystych komórek mięśniowych MDC.

Pacjentki, które zostały zakwalifikowane do badania, zgłaszały objawy WNM I i II stopnia, prawidłową czynność zwieracza pęcherza moczowego potwierdzoną w badaniu urodynamicznym.

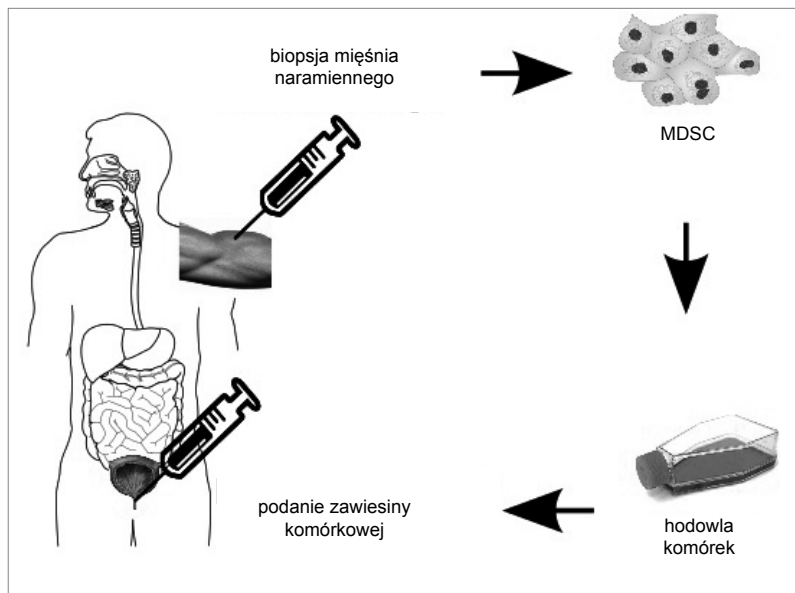
U kobiet zakwalifikowanych do terapii z wykorzystaniem MDC nie uzyskano wcześniej poprawy w leczeniu zachowawczym, tzn. w wyniku elektrostymulacji przezpochwowej, ćwiczeń mięśni dna miednicy w okresie poprzedzających 10 miesięcy. Po wykonaniu



Ryc. 4. Hodowane komórki mięśniowe w barwieniu: A – hematoksyliną/eozyną – morfologia komórek; B – przeciwciałem przeciwko ludzkiej desminie; C – morfologia komórek przed różnicowaniem; D – morfologia komórek po różnicowaniu (hematoksyliną/eozyną)

morfologii krwi, CRP (białko ostrej fazy), układu krzepnięcia, badań wirusologicznych (HIV, HbSAg, HCV) oraz badania ogólnego moczu i wykluczeniu wyników patologicznych pacjentki zostały włączone do badania. Wszystkie kobiety rodziły wcześniej siłami natury przynajmniej jeden raz. BMI grupy nie przekraczało 30, jednak 4 kobiety miały BMI powyżej 25.

Procedura zastosowanej terapii obejmowała pobranie fragmentu mięśnia szkieletowego, izolację komórek satelitarnych, namnożenie mioblastów i przeszczepienie do zwieracza cewki moczowej (Ryc. 5). Biopsje mięśnia naramiennego wykonywano przezskórnie z wyko-



Ryc. 5. Schemat terapii komórkowej w leczeniu nietrzymania moczu

rzystaniem igły 14 G o długości 10 cm Ultra CORE Biopsy Needle (Ryc. 6).

W badaniach Stangel-Wójcikiewicz i wsp. hodowle komórek mięśniowych prowadzono na pożywce hodowlanej wykorzystywanej obecnie do namnażania tych komórek dla celów inżynierii tkankowej – Ham's F10 oraz SKBM (*skeletal muscle basal medium*) [12, 13]. Morfologię, charakterystykę oraz potencjał różnicowania podawanych komórek przedstawia Ryc. 4.

Po około 6 tygodniach uzyskane komórki MDC w postaci zawiesiny (Ryc. 7) podawano pacjentkom w warunkach sali operacyjnej i znieczuleniu miejscowym (żel z lignokainą podany do cewki moczowej) pod kontrolą wzroku dzięki wprowadzonej kamerze endoskopowej.



Ryc. 6. Biopsja mięśnia naramiennego pod kontrolą USG

Pozwoliło to na precyzyjne umiejscowienie materiału komórkowego. Podanie wykonywano w trzech miejscach wokół zwieracza cewki moczowej. Do iniekcji wykorzystano płaszcz i optykę endoskopową stosowaną przy podawaniu materiałów uszczelniających, używając do tego celu igły 25 G (długości 88 mm). Wstrzyknięcie komórek do zwieracza przez cewkę moczową wykonywano na 9, 12, 3 godzinie. Wizyty kontrolne przeprowadzono po 8 miesiącach od iniekcji. Każdorazowo wykonano badanie urodynamiczne w celu obiektywnej oceny (Ryc. 8).



Ryc. 7. Zawiesina komórkowa po hodowli (z lewej). Podanie przezcewkowe zawiesiny komórkowej (z prawej)



Ryc. 8. Obraz endoskopowy (od lewej): przed podaniem, iniekcja na 9 godz., iniekcja na 12 godz. oraz 3 godz., obraz po zakończeniu iniekcji

Tabela 4. Średni wiek kobiet w grupach: z N (brakiem poprawy), P (częściową poprawą), T (z całkowitą poprawą NTM)

Grupy	Średni wiek	Min.	Maks.	Średnie BMI	Min.	Maks.
N	55,25	49	61	27,35	24	30
P	51,8	46	56	29,33	26	30
T	56,88	41	70	25,06	21	28
(N+P+T)	54,64	–	–	27,25	–	–

U dwóch pacjentek konieczny okazał się zabieg TOT (*trans obturator tape*), po którym przywrócono całkowite utrzymanie moczu. Kolejne dwie pacjentki nie zgłosiły się do kontroli. Nie zaobserwowano poważnych skutków ubocznych, w tym krwawienia w miejscu wkłucia, infekcji ani nowotworzenia. Kontrolne badanie ginekologiczne oraz ultrasonografia dna miednicy nie wykazały zmian tkanekowych w okolicy wcześniejszego podania MDC (Tabela 4).

Poprawa objawów NTM nie następowała równocześnie u wszystkich pacjentek, ale około 4 miesiące od terapii, i postępowała stopniowo do 6 miesięcy po podaniu MDC [14].

Dotychczas nie opisano optymalnej techniki wstrzykiwania komórek MDC do mięśnia zwieracza, która pozwoliłaby na łatwe i skuteczne leczenie nietrzymania moczu. Nasze doświadczenia wskazują, że zarówno pozyskanie tkanki mięśniowej, izolacja z niej komórek, ich hodowla oraz podanie są osiągalne w warunkach klinicznych jako leczenie małoinwazyjne. Konieczne okazało się zastosowanie optyki endoskopowej, która umożliwiła zoptymalizowanie techniki oraz uzyskanie powtarzalności miejsc podania zawiesiny komórkowej MDC. Na podstawie pierwszej analizy naszego badania stwierdzono, że wykorzystanie w leczeniu MDC prowadzi w niektórych przypadkach do poprawy objawów nietrzymania moczu zarówno obiektywnej, jak i subiektywnej. Czas, po jakim pacjentki zgłasza-

ły poprawę w utrzymaniu moczu, wiąże się najprawdopodobniej ze specyfiką materiału komórkowego, którego mechanizm działania jest odmienny od preparatów uszczelniających. Głębokie podanie MDC wokół zwieracza cewki moczowej wydaje się głównym elementem powodzenia terapii NTM. Nie została potwierdzona wymagana minimalna liczba komórek do jednego podania, która zapewniłaby pełną kontrolę utrzymania moczu. Cel ten zostanie osiągnięty po zakończeniu wielośrodkowych badań klinicznych.

Bibliografia

1. Seale P, Rudnicki M.A., *A new look at the origin, function, and "stem-cell" status of muscle satellite cells*, „Dev. Biol.” 2000, 218, s. 115–124.
2. Laguens R., *Satellite cells of skeletal muscle fibers in human progressive muscular dystrophy*, „Virchows Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med.” 1963, 336, s. 564–569.
3. Zammit P, Beauchamp J., *The skeletal muscle satellite cell: stem cell or son of stem cell?*, „Differentiation” 2001, 68, s. 193–204.
4. Buckingham M., Montarras D., *Skeletal muscle stem cells*, „Curr. Opin. Genet. Dev.” 2008, 18, s. 330–336.
5. Buckingham M., Bajard L., Chang T., Daubas P., Hadchouel J., Meilhac S., Montarras D., Rocancourt D., Relaix F., *The formation of skeletal muscle: from somite to limb*, „J. Anat.” 2003, 202, s. 59–68.
6. Bischoff R., *The satellite cell and muscle regeneration*, [w:] Engel A.G., Franzini-Armstrong C., *Myogenesis*, York, McGraw-Hill, 1994, s. 97–118.
7. Ratajczak M.Z., Majka M., Kucia M., Drukala J., Pietrzkowski Z., Peiper S., Janowska-Wieczorek A., *Expression of functional CXCR4 by muscle satellite cells and secretion of SDF-1 by muscle-derived fibroblasts is associated with the presence of both muscle progenitors in bone marrow and hematopoietic stem/progenitor cells in muscles*, „Stem. Cells” 2003, 21, s. 363–371.
8. Rossi D., Zlotnik A., *The biology of chemokines and their receptors*, „Ann. Rev. Immunol.” 2000, 18, s. 217–242.
9. Carr L.K., Steele D., Steele S., Wagner D., Pruchnic R., Jankowski R., Erickson J., Huard J., Chancellor M.B., *1-year follow-up of autologous muscle-*

- derived stem cell injection pilot study to treat stress urinary incontinence, „Int. Urogynecol. J.” 2008, 19, s. 881–883.
10. Carr L.K., Robert M., Kultgen P.L., Herschorn S., Birch C., Murphy M., Chancellor M.B., *Autologous muscle derived cell therapy for stress urinary incontinence: a prospective, dose ranging study*, „J. Urol.” 2013, 189(2), s. 595–601.
 11. Gräs S., Lose G., *The clinical relevance of cell-based therapy for the treatment of stress urinary incontinence*, „Acta Obstet. Gynecol. Scand.” 2011, 90, s. 815–824.
 12. Ham R.G., St Clair J.A., Webster C., Blau H.M., *Improved media for normal muscle satellite cells serum-free clonal growth and enhanced growth with low serum*, „In Vitro Cell. Dev. Biol.” 1988, 24, s. 833–844.
 13. Straeter-Stern J., Bran G., Riedel F., Sauter A., Horman K., Goessler U.R., *Characterization of human myoblast cultures for tissue engineering*, „Int. J. Mol. Med.” 2008, 21, s. 49–56.
 14. Stangel-Wojcikiewicz K., Jarocha D., Piwowar M., Jach R., Uhl T., Basta A., Majka M., *Autologous Muscle-Derived Cells for the Treatment of Female Stress Urinary Incontinence: A 2-Year Follow-Up of a Polish Investigation*, „Neurourol. Urodynam.” 2013; DOI: 10.1002/nau.22404.